Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 433-439

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 439-433

تشخیص اختصاصی آفلاتوکسین G1 بر مبنای رنگ‌سنجی آپتاسنسور به‌وسیله سوسپانسیون نانو ذرات طلا شده

آرزو هاشم‌نیا[1]- وحید حکیم‌زاده[2]*

تاریخ دریافت: 1396/11/21
تاریخ پذیرش: 1398/01/17

چکیده

آفلاتوکسین‌ها سموم قارچی طبیعی هستند که از گونه‌های قارچ *آسپرژیلوس* مانند *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* نشات می‌گیرند. این سموم اگر از راه مواد خوراکی وارد بدن شوند می‌توانند سرطان‌زا باشند. روش‌های تشخیصی متفاوتی برای آفلاتوکسین وجود دارد که زمان‌بر و پرهزینه می‌باشد. روش آپتاسنسورهای رنگ‌سنجی به‌وسیله نانو ذرات طلای سوسپانسیون شده در آب، روشی سریع و اختصاصی می‌باشد که با استفاده از یک ملکول شناساگر با درجه انتخابی بالا انجام می‌شود در این پژوهش آپتامری با توالی GTTGGGCACGTGTTGTCTCTCTGTGTCTCGTGCCCTTCGCTAGGCCCACA برای تشخیص چهار آفلاتوکیسن B_1، B_2، G_1 و G_2 استفاده شد. نتایج نشان داد که این آپتامر به‌طور اختصاصی توانایی تشخیص آفلاتوکیسن G_1 را داشت به نحوی که هنگام اضافه شدن آفلاتوکسین G_1 به محلول حاوی آپتامر و نانوذرات طلا ، آپتامر دچار تغییر ساختار شده و از نانو ذرات طلا جدا می‌شود و جذب آفلاتوکسین می‌گردد. پس از جدا شدن آپتامر، نانوذرات ناپایدار شده بلافاصله تجمع و رسوب داده که منجر به تغییر رنگ از قرمز به بنفش می‌گردند. اما در مورد سایر آفلاتوکسین های مورد بررسی چنین تغییر رنگی مشاهده نشد که نشان‌دهنده آن است که این آپتامر در برابر آن‌ها به تغییر ساختار حساس نیست و اختصاصی عمل نمی‌کند.

واژه‌های کلیدی: آپتامر، آفلاتوکسین، بیوسنسور، سوسپانسیون، نانوذرات طلا.

مقدمه

هنگامی که اندازه ماده به مقیاس طولی در حد نانومتر (طول حرکت الکترونی که خواص ماده را تعیین می کند) کاهش می یابد خواص الکترونی و بنابراین خواص شیمیایی آن به شدت تغییر می‌کند. در نانوذراتی مانند طلا و نقره، نوسان منسجم تجمعی از الکترون‌ها در نوار رسانش، میدان‌های الکتریکی سطحی بزرگی را القا می‌کند که در صورت برهمکنش با تابش رزونانسی الکترومغناطیسی، خواص تابشی آن ها به شدت افزایش می‌یابد (El-Sayed, 2001). این روند باعث می‌گردد فرآیند جذبی این نانوذرات چندین برابر نیرومندتر از فرآیند جذبی قویترین مولکول‌های جاذب شود و نور پراکنده شده از آن‌ها نیز چندین برابر شدیدتر از فلورسانس رنگ‌های آلی باشد (Link and El-Seyed, 1999; Yguerabide, 1998). این خواص منحصر به‌فرد، پتانسیل بالایی را برای این نانوذرات فراهم می‌کند تا بتوانند در بسیاری از کاربردها مانند سنسورهای بیوشیمیایی، تصویربرداری بیولوژی و درمان‌های پزشکی مورد استفاده قرار گیرند (Freund and Spiro, 1986; Mirkin *et al.*, 1996 and Hirsch *et al.*, 2003).

سوسپانسیون نانوذرات طلا هنگامی که در معرض یک پرتو نور سفید قرار می‌گیرد، نور رنگی پراکنده می‌کند و می‌تواند همانند محلول‌های فلورسانس ظاهر شوند (Eustis, 2004 and Shankar *et al.*, 2006). پراکندگی نور به اندازه، شکل وکامپوزیت نانوذرات حساس است به‌طوریکه نانوذرات کروی با اندازه 58 نانومتر، نور سبز و هنگامی که 78 نانومتر باشد، نور زرد را پراکنده می‌کنند. از این نظر، نانوذرات طلا دارای پتانسیل بالایی برای کاربردهای تصویربرداری پزشکی می‌باشند (Akbari *et al*, 2011). اگرچه احتمال سمیت نانوذرات مانند نانوذرات نقره وجود دارد اما نانوذرات طلا دارای سمیت نیست (Pan *et al.*, 2007).

آپتامرها الیگونوکلئوتیدهای کوتاه تک رشته‌ای DNA و یا RNA و یا پروتئین‌های اختصاصی هستند که این توانایی را دارند که به‌طور اختصاصی به هدفشان متصل شوند. پایه و اساس شناسایی هدف توسط آپتامرها، ساختار سوم تشکیل شده توسط آن‌ها می‌باشد (Blank and Blind, 2005; Stoltenburg *et al.*, 2007). آپتامرها آنقدر اختصاصی عمل می‌کنند که می‌توانند حتی بین مولکول‌های کایرال نیز

1 و 2- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم وصنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.
(* - نویسنده مسئول: Email: v.hakimzadeh@yahoo.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v15i4.70900

تفاوت قائل شوند و قادرند یک اپی‌توپ متفاوت از مولکول هدف را تشخیص بدهند به‌طوری که حتی بین دو هدف مرتبط و نزدیک به هم از نظر ساختاری مانند کافئین و تئوفیلین تفاوت قائل می‌شوند (Stoltenburg *et al*., 2007). یکی از مزیت‌های مهم آپتامرها نسبت به آنتی‌بادی‌ها، اندازه کوچکتر آن‌ها می‌باشد که سبب نفوذ راحت‌تر و موثرتر آن‌ها می‌شود. همچنین آپتامرها سمیت و یا مشکلات ایمونولوژی نداشته و یا میزان آن ها بسیار کم است. در ضمن به‌راحتی اصلاحات شیمیایی روی آن‌ها انجام می‌شود و می‌توان مقدار زیادی از آن ها را با هزینه کم تولید کرد. به‌علاوه چون به‌صورت برون‌تنی تهیه می‌شوند بدون نگرانی از نظر سمیت و ایمونولوژی قابل استفاده هستند، همچنین در برابر شرایط احیاءکننده و دمای بالا پایدار بوده و از نظر اختصاصیت و تمایل برای هدف اگر بیشتر از آنتی‌بادی نباشند کمتر از آن‌ها نیستند (Que and Sullenger, 2007; Hicke *et al*., 2006; Ohuchi *et al*., 2006). بنابراین بیوسنسورهایی که از آپتامرها به‌عنوان عناصر شناسایی‌کننده زیستی استفاده می‌کنند، به‌عنوان آپتاسنسور شناخته می‌شوند (Zhou *et al*., 2011; Hermman and Patel, 2000).

آفلاتوکسین‌ها سمومی هستند که به‌وسیله تعدادی از قارچها که عمدتا از خانواده *آسپرژیلوس*‌ها هستند برروی خوراک دام و مواد غذایی رشد می‌کنند و نسبت به سایر سموم قارچی به علت اثرات سرطان زائی و ایجاد مسمومیت‌های حاد از اهمیت بیشتری برخوردارند. در طبیعت چهار نوع آفلاتوکسین اصلی شامل B_1، B_2، G_1 و G_2 و دو نوع محصولات متابولیکی از آنها به نامهای M_1 و M_2 وجود دارند که می‌توانند خوراکهای دام و انسان همانند ذرت، سورگوم، گندم، سویا، کنجاله پنبه دانه، بادام‌زمینی، آجیل‌ها و خشکبار را آلوده سازند (Alex *et al*., 2014). در این تحقیق با توجه به زیان‌های زیاد ناشی از آفلاتوکسین‌ها به مواد زراعی و مسمومیت‌های ناشی از آن‌ها شناسایی سریع این سموم به روش آپتاسنسور مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

سنتز و آماده‌سازی نانوذرات طلا

ابتدا محلول با غلظت 50 میلی‌مولار از نمک تتراکلرید طلا تهیه شد و سپس 2 میلی‌لیتر از آن به حجم 100 میلی‌لیتر رسانده شد و هنگام حرارت دادن آن مقدار 10 میلی‌لیتر سیترات سدیم 38 نانومولار نیز به آن اضافه گردید. محلول پس از 20 دقیقه حرارت دادن برای سرد شده به داخل یخچال انتقال یافت.

برای هر تست میزان نانوگلد مورد نیاز طی دومرحله با سرعت 12000 rpm در دمای اتاق به مدت 20 دقیقه سانتریفوژ گردید. به این صورت که پس از اتمام دور اول سانتریفوژ، مایع رویی یا سوپرنانت برداشته شد و با آب مقطر مخلوط و دوباره سانتریفوژ گردید. در نهایت سوپرنانت به‌دست آمده از مرحله دوم با 1500 میکرولیتر آب مقطر به‌خوبی مخلوط گردید(Shankar *et al*., 2004).

سنتز آپتامر

آپتامرها طی فرایندSELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) انتخاب و تکثیر شدند. فرآیند SELEX یک تکنیک برون‌تنی برای انتخاب، تکثیر و غنی‌سازی الیگونوکلئوتیدهای تک رشته‌ای (که برای هدف مورد نظر اختصاصی هستند) از میان کتابخانه‌ای از توالی اسیدهای نوکلئیک به شکل تصادفی است (Davis *et al*., 1996; Gopinath, 2007). نقطه شروع در فرآیند SELEX ایجاد خزانه‌ای از DNA یا RNA است که حاوی 135- 133 قطعه تک رشته‌ای از DNA باشد. معمولاً توالی منطقه وسط رشته‌ها تصادفی و حاوی حدود80 -20 نوکلئوتید است اما دو توالی مشخص و ثابت در دو طرف آن‌ها وجود دارد که حدوداً حاوی 18-21 نوکلئوتید است (Stoltenburg *et al*., 2007).

مراحل فرآیند SELEX به‌صورت خلاصه شامل مراحل زیر است:

1) اتصال: اتصال نوکلئوتیدها به مولکول هدف

2) شستشو: جداسازی کمپلکس آپتامر- هدف از سایر نوکلئوتیدهای باند نشده

3) جداسازی: جداسازی آپتامر از هدف مربوطه

4) تکثیر: تکثیر آپتامر مورد نظر توسط PCR به‌منظور اصلاح خصوصیات آپتامرهای انتخاب شده

5) آماده‌سازی: شامل جدا کردن دو رشته DNA و کاهش غلظت هدف به‌منظور افزایش تمایل آپتامرهای انتخاب شده (Blank and Blind, 2005; Stoltenburg *et al*., 2007).

غلظت‌سازی آفلاتوکسین‌ها

آفلاتوکسین‌های B_1, B_2, G_1, G_2 از شرکت سیگما خریده شد. سپس غلظت‌های مختلفی برای ساختن محلول‌های استوک از صفر تا 2000 نانومولار تهیه شد (Amini *et al*., 2014).

روش انجام آزمون

آزمون در یک پلیت 96 خانه انجام شد و برای هر غلظت سه تکرار در نظر گرفته شد. در هر آزمون 100 میکرولیتر از محلول نانوذرات طلا آماده شده در مرحله قبل در 11 غلظت و سه تکرار در خانه‌های پلیت تزریق شد. سپس 15 میکرولیتر از آپتامر با غلظت 5 میکرومول به همراه 10 میکرولیتر آب مقطر به خانه‌ها اضافه گردید و به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق گرمخانه‌گذاری شد. پس از گذشت این مدت 25 میکرولیتر از غلظت‌های مختلف آفلاتوکسین به همراه 15 میکرولیتر محلول نمک 2 مولار و 35 میکرولیتر آب مقطر به خانه‌ها اضافه شد و پس از اختلاط

دقیق آن (از طریق مکش و رانش سمپلر که اصطلاحا Up & Down نام دارد) در دستگاه الایزاریدر میزان جذب آن قرائت گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

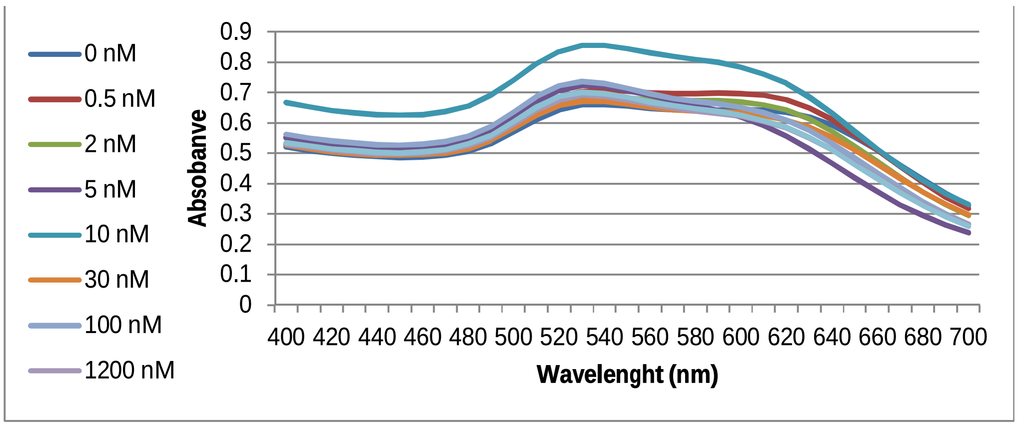
نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار Gen5 مورد ارزیابی قرار گرفت و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

نتایج و بحث

آفلاتوکسین G_1

میزان جذب محلول‌هایی که با آفلاتوکسین G_1 مخلوط شده است را می‌توان در شکل 1 مشاهده کرد. همانطور که در شکل دیده می‌شود نمونه‌ها در دو طول موج 520 و 620 نانومتر بیشترین جذب را داشتند. همانطور که می‌دانیم ذرات طلا در 520 نانومتر بیشترین جذب را دارند اما وقتی که ذرات طلا تجمع می‌یابند در 620 نانومتر بیشترین جذب را خواهند داشت. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که آفلاتوکسین G_1 به این آپتامر اتصال برقرار کرده است. به عبارت دیگر، آپتامری که در ابتدا با نانوذرات طلا اتصال برقرار کرده بود پس از اضافه کردن آفلاتوکسین از ذرات طلا جدا شده و به آفلاتوکسین متصل شد و ذرات طلا تجمع یافتند. این تغییر رنگ با چشم مشاهده شد و رنگ نانوذرات طلا پس از آگلومره شدن از قرمز به بنفش تغییر رنگ می‌دهند. از نتایج به‌دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که این آپتامر برای آفلاتوکسین G_1 هدفمند بوده و قادر به شناسایی آن بر اساس رنگ‌سنجی می‌باشد.

چن و همکاران (2013)، از یک روش کالریمتریک ساده و مشابه برای تشخیص یون پتاسیم استفاده کردند. آزمایش‌های کالریمتریک در نتایج این محققین نشان داد که پس از اضافه کردن یون K^+ کمپلکس $anti\text{-}K^+$ در محلول از ساختار پیچشی به ساختار فشرده و سختی به نام G-quadruplex تغییر می‌کند. که این ساختار باعث تغییر رنگ از قرمز به بنفش می‌شود که این تغییر رنگ قابل مشاهده است و با چشم مسلح دیده می‌شود. در تحقیق مشابه دیگر تاکور و همکاران (2013)، از تکنیک بیوسنسور کالریمتریک توسط آپتامر بر پایه نانوذرات‌طلا برای تشخیص ژن P53، که یک پروتئین سرکوبگر تومور است، استفاده کردند. نتایج این محققین نشان داد که دفع P53 از سطح سوسپانسیون نانوذرات طلا و اتصال آن به آپتامر RNA باعث تجمع نانوذرات طلا شده و در نتیجه منجر به تغییر رنگ سوسپانسیون از قرمز به بنفش گردید.



شکل 1- نمودار شدت جذب برای نمونه های حاوی آفلاتوکسین G_1

آفلاتوکسین G_2

همانطور که در نمودار جذب مربوط به نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین G_2 دیده می‌شود (شکل2) بیشترین جذب فقط در طول موج 520 نانومتر اتفاق افتاد و از آن به بعد میزان جذب روند نزولی داشت. به عبارت دیگر میزان جذب فقط مربوط به نانوذرات طلا بوده و بعد ازآن ذرات طلا نتوانستند با هم تجمع پیدا کنند. به بیان دیگر آپتامر با آفلاتوکسین G_2 اتصالی نداشته و این آپتامر برای تشخیص آفلانوکسین G_2 هدفمند نیست.

آفلاتوکسین B_1

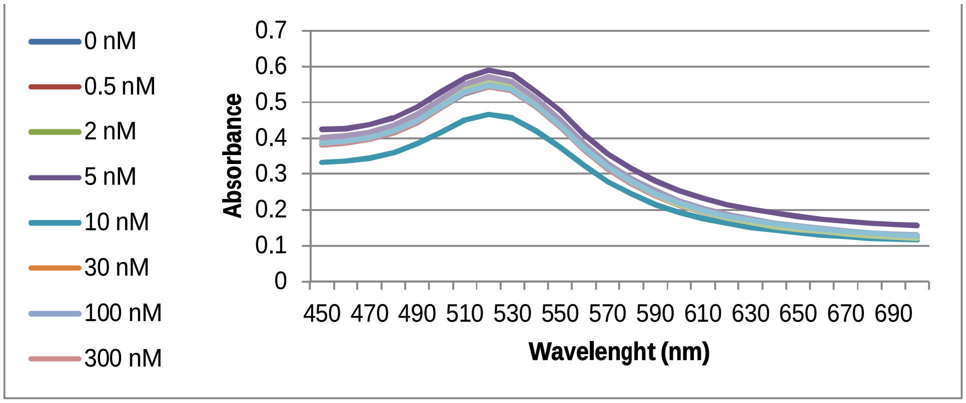
نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین B_1 نیزبیشترین جذب را در 520 نانومتر نشان دادند و میزان جذب در طول موج‌های بعدی کاهشی بود بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که این آپتامر نیز برای آفلاتوکسین B_1 هدفمند نبوده و قابلیت اتصال به آن و آزادسازی نانوذرات طلا را ندارد (شکل 3).

آفلاتوکسین B_2

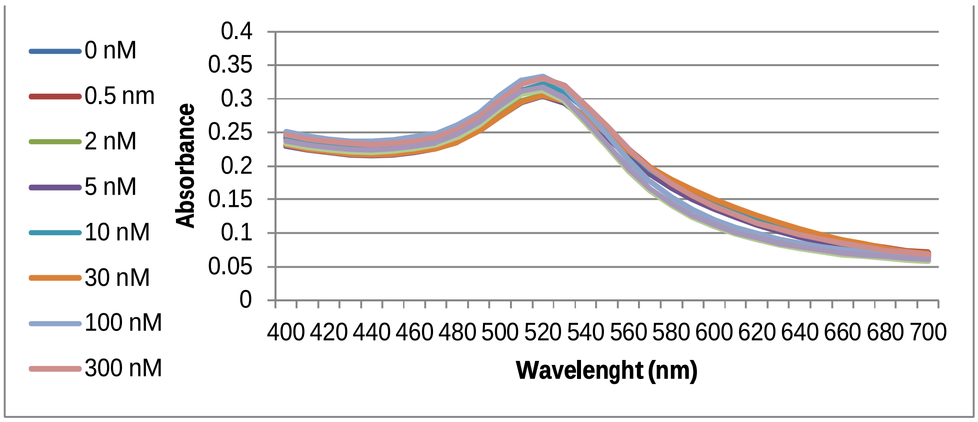
همانطور که در شکل 4 نیز دیده می‌شود نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین B_2 هم نتوانستند با آپتامر مد نظر اتصال برقرار کنند و در نتیجه ذرات طلای سوسپانسیون شده به‌صورت مجتمع در نیامده و

جذب دیگری را پس از 520 نانومتر نشان ندادند. از این‌رو این آپتامر نیز برای شناسایی آفلاتوکسین B_2 اختصاصی و مناسب نبود.

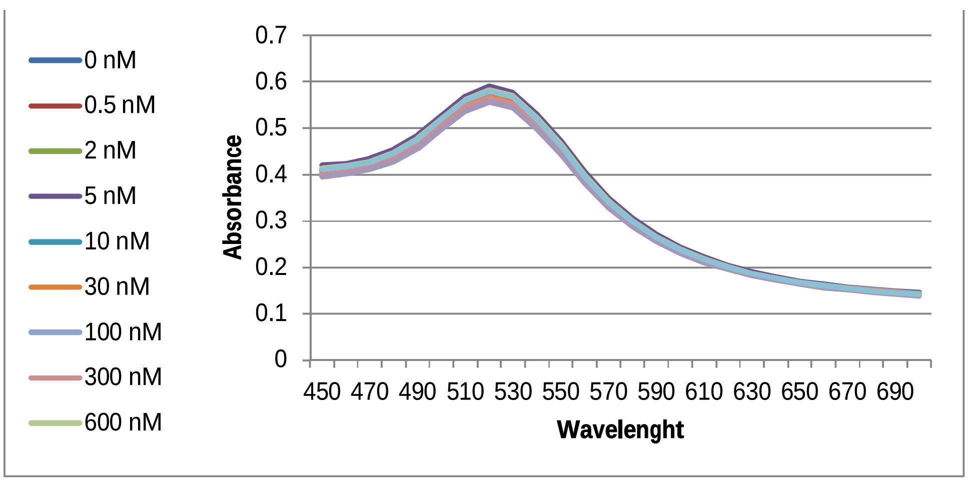
در شکل 5 نیز می‌توان به وضوح تغییر رنگ نمونه های حاوی آفلاتوکسین G_1 را پس از لینک شدن با آپتامر ملاحظه نمود که برای سایر آفلاتوکسین‌ها این تغییر رنگ دیده نمی‌شود.



شکل 2- نمودار شدت جذب برای نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین G_2



شکل 3- نمودار شدت جذب برای نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین B_1



شکل 4- نمودار شدت جذب برای نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین B_2



شکل 5- تفاوت تغییر رنگ نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین G1 (چپ) با سایرنمونه‌ها (راست)

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی اساس این تشخیص تمایل بالای آپتامر مذکور برای اتصال به آفلاتوکسین مناسب و در نتیجه جدا شدن از نانوذرات طلا بود که منجر شد نانوذرات طلا پس از جدا شدن تجمع یافته و با تغییر رنگ از قرمز به بنفش در طول موج دیگری جذب بالایی را نشان دهند. در این تحقیق تمایل اتصال این آپتامر در حضور نانوذرات طلا فقط برای آفلاتوکسین G_1 نشان داده شد و این آپتامر توانایی اتصال به سایر آفلاتوکسین ها یعنی G_2، B_1 و B_2 در حضور نانوذرات را نداشت. این آپتاسنسور توانایی کاربرد تشخیصی را برای موارد مختلفی مانند وجود آفلاتوکسین در غلات و دانه های روغنی دارد

منابع

Akbari, B Pirhadi Tavandashti, A and Zandrahimi, M. 2011. Particle Size Characterization of Nanoparticles- a Practical Application”, *Iranian Journal of Materials Science & Engineering*, 8 (2): 48-56.

Alex P. Wacoo, Deborah Wendiro, Peter C. Vuzi, and Joseph F. Hawumba. 2014. Methods for Detection of Aflatoxins in Agricultural Food Crops. *Journal of Applied Chemistry* Volume 2014, Article ID 706291, 1-15

Amini A., Afzali-Grooh D., Chamsaz M. 2014. Determination of Aflatoxins B1 and B2 in Powdered Milk Using Modified Liquid Chromatography Method, 21 (4): 321-331.

Blank M, Blind M. 2005. Aptamers as tools for target validation. *Current Opinion in Chemical Biology*. 9(4):336-42.

Chen A, Liu J, Guan Z, LV Z, Jiang X, Yang S. 2014. Improving sensitivity of gold nanoparticle based fluorescence quenching and colorimetric aptasensor by using water resuspended gold nanoparticle. *Biosensors and Bioelectronics* 52 (15), 265-270.

Davis KA, Abrams B, Lin Y, Jayasena SD. 1996. Use of a high affinity DNA ligand in flow cytometry. *Nucleic Acids Research*. 24(4):702-6.

El-Sayed M.A. 2001. Some Interesting Properties of Metals Confined in Time and Nanometer Space of Different Shapes. Acc. Chem. Res., 34 (4), pp 257–264.

Freund, P. L., Spiro, M. (1986). J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1, 82, 2277.

Gopinath SCB. 2007. Methods developed for SELEX. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*.387(1):171-82.

Hermann T, Patel DJ. 2000. Adaptive recognition by nucleic acid aptamers. *Science*. ;287(5454):820

Hicke BJ, Stephens AW, Gould T, Chang Y-F, Lynott CK, Heil J, et al. 2006. Tumor Targeting by an Aptamer. *J Nucl Med*. 2006 1, 47(4):668-78.

Hirsch, L. R., Stafford, R. J., Bankson, J. A., Sershen, S. R., Rivera, B., Rrice, R. E., Hazle, J. D., Halas, N. J. West, J. L. 2003. Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance. Proc. *Natl. Acad. Sci*, 100(23):13549-54.

Link S and El-Sayed M.A. 1999. Spectral Properties and Relaxation Dynamics of Surface Plasmon Electronic Oscillations in Gold and Silver Nanodots and Nanorods. *J. Phys. Chem*. B 103, 8410-8426.

Mirkin CA, Letsinger RL, Mucic RC, Storhoff JJ. 1996. A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic material. *J. Nature*, 382(6592):607-9.

Ohuchi SP, Ohtsu T, Nakamura Y. 2006. Selection of RNA aptamers against recombinant transforming growth factor-[beta] type III receptor displayed on cell surface. *Biochimie*. 88(7): 897-904.

Pan, Y et al, 2007. Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles. *Small*, 3 (11): 1941-1949.

Que-Gewirth NS, Sullenger BA. 2007. Gene therapy progress and prospects: RNA aptamers. *Gene Therapy*, 14(4):283-91.

Shankar, S.S, Rai, A, Ahmad, A. Sastry, M. 2004. Rapid synthesis of Au, Ag and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticle using neem (Azadirachtaindica) leaf broth",*Colloid Interface Sci*, 2004,275,496-502.

Stoltenburg R, Reinemann C, Strehlitz B. 2007. SELEX--a (r)evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands. Biomol Eng. [Review]. 24(4):381-403.

Susie Eustis. 2006. Gold and Silver Nanoparticles: Characterization of Their Interesting Optical Properties and the Mechanism of Their Photochemical Formation. thesis for the DegreeDoctor. Georgia Institute of Technology.

Thakur M.S, Shwetha N, Selvakumar L.S. 2013. Aptamer–nanoparticle-based chem luminescence for p53 p *Anal. Biochem*, 262(2):137-56.

Yguerabide J, Yguerabide E 1998. Light-scattering submicroscopic particles as highly fluorescent analogs and their use as tracer labels in clinical and biological applications. *Anal. Biochem*, 262(2):137-56.

Zhou L, Wang MH, Wang JP, Ye ZZ. 2011. Application of Biosensor Surface Immobilization Methods for Aptamer. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*. 39(3):432-8.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 4, Oct- Nov 2019, p. 433-439

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 4، مهر - آبان 1398، ص. 433-439

Proprietary diagnosis of aflatoxin G_1 based on aptasensor colorimetry using gold nanoparticles Suspension

A. Hashemnia[1], V. Hakimzadeh[2*]

Received: 2018.02.10
Accepted: 2019.04.06

Introduction: When the size of a material is reduced to the nanometer length scale, the electron properties and therefore its chemical properties change greatly. In nanoparticles such as gold and silver, the coherent oscillation of electrons in the conduction strip creates large surface electric fields which, when they interact with electromagnetic resonance radiation, their radiant properties rises sharply. This process causes the absorption process of these nanoparticles to be several times stronger than the absorption process of the strongest adsorbent molecules and their scattered light is several times more intense than the organic materials fluorescence. These unique properties provide a high potential for these nanoparticles to be used in many applications such as biochemical sensors, biomedical imaging and medical treatments. Aptamers are single-stranded oligonucleotides, DNA, RNA or proprietary proteins that have the ability to attach specifically to their target. The basis for identifying the target by aptamers is the third structure formed by them. One of the important benefits of aptamers to antibodies is their smaller size, which makes them more easily and effectively penetrated. It also has neither toxicity nor immunogenicity unless in very low levels. Therefore, biosensors that use aptamers as biological identifiers are known as aptasensors. In this research, due to the high losses caused by aflatoxins to the crops and their toxicity, the rapid detection of these pesticides by aptasensor method was investigated.

Materials and methods: The test was carried out in a 96-well plate and for each concentration three replicates were considered. In each test, 100 µl of the nano gold solution, which was centrifuged twice at 12000 rpm and at room temperature, was thrown into 11 concentrations and three repetitions in the plate houses. Then adding 15 µlit of aptamer at a concentration of 5 µmol plus 10 µlit of distilled ultrapure water to the houses and incubate for 30 minutes at room temperature. After this time, 25 µlit of different concentrations of aflatoxin plus 15 µlit of 2 molar salt solutions and 35 µlit of distilled water were added to the houses and, after mixing (up and down) in the ELISA reader, absorbed it we read.

Results and discussions: At first, with adding the aptamer to Nano gold particles a complex between nanoparticles and aptamer is created. But in present of suitable aflatoxin, the complex of nanoparticle and aptamer is separated and a new complex between aflatoxin and nanoparticle is formed. Subsequently the color is changed to purple. This color change is visible to the eye, indicating that the Aptamer is suitable for Target. In this study, it was found that an aptamer with GTTGGGCACGTGTTGTCTCTCTGTGTCTCGTGCCCTTCGCTAGGCCCACA sequence only affects aflatoxin G1 and other aflatoxins such as B1, B2, and G2 should be considered as another sequencer for Aptamer.

Keyword: Aptamer, Aflatoxin, Biosensors, Gold nanoparticles, Suspensions.

1 and 2. Department of food science and technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.
(*- Corresponding Author Email: v.hakimzadeh@yahoo.com)